

Zur Frage der Lebertoxizität
des blutzuckersenkenden
Sulfonylharnstoffderivats D 860

von

HANS KASTEIN

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Zur Frage der Lebertoxizität des blutzucker-
senkenden Sulfonylharnstoffderivats D 860

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Hans Kastein

aus

Hannover



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. W. Büngeler

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Juli 1958

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.	Seite 2
Methodik.	3
Ergebnisse.	5
1. Die statistische Auswertung der Elektrophoresesen.	5
2. Die Auswertung der Mortalität.	10
3. Mikroskopische Befunde.	11
Diskussion der Ergebnisse und Schluss- folgerungen.	12
Zusammenfassung.	14
Tabellen 1 - 4.	15
Abbildungen 1 - 3.	19
Schrifttum.	22
Lebenslauf.	24

Einleitung.

Die Geschichte der oralen Behandlung des Diabetes mellitus ist fast so alt, wie die der Therapie mit Insulin. Jedoch hat sich keines der verwendeten Medikamente, bei denen es sich vorwiegend um Guanidinverbindungen handelte, behaupten können, da erhebliche Nebenerscheinungen von Seiten des Magen-Darm-Traktes auftraten, die blutzuckersenkende Wirkung in der Hauptsache auf eine Schädigung der Leber zurückgeführt wurde und zudem das Insulin in keinem beschriebenen Fall eindeutig ersetzt werden konnte (48).

Ein neuer Weg ergab sich erst mit der Einführung der Sulfonharnstoffe in die Behandlung des Diabetes mellitus. Franke und Fuchs (19), sowie Bertram, Bendfeldt und Otto (7), berichteten erstmals 1955 über ihre klinischen Erfahrungen mit N-Sulfanilyl-N'-butyl-harnstoff (BZ55). Ebenfalls 1955 teilten dann Bänder (4), Stötter (45) und Creutzfeldt (14) Ergebnisse pharmakologischer und klinischer Untersuchungen eines anderen Sulfonimidabkömmlings, des N-(4-Methyl-benzol-sulfonyl)-N'-butylharnstoff (D860), mit. Diese dem BZ55 chemisch ähnliche Substanz unterscheidet sich demnach von dem Sulfonamid durch das Fehlen der para-ständigen Aminogruppe am Benzolkern und damit durch das Fehlen der bakteriostatischen Wirkung. Ferner wird das Ausscheidungsprodukt von D860, anders als beim BZ55, ganz überwiegend und viel schneller über die Nieren aus dem Körper entfernt, womit auch die mitunter geringere Wirksamkeit des D860 erklärt worden ist (31).

Allergotoxische Nebenerscheinungen unter D860-Medikation wurden wesentlich seltener als bei BZ55 beobachtet (37). Bezüglich einer toxischen Wirkung auf die Leber ist bisher von Seiten der Klinik noch nicht einheitlich Stellung genommen worden (13,15,20,24,36,42,44,). Insbesondere ist, trotz fehlender Zeichen der Toxizität beim lebergesunden Diabetiker, noch ungeklärt, ob eine D860-Medikation beim leberkranken Diabetiker zu verantworten ist. Durch eine neuartige Versuchsanordnung - Verabreichung der Substanz an lebergeschädigte Ratten - sollte deshalb in der vorliegenden Arbeit zu diesem Problem

Stellung genommen werden.

Methodik.

70 weisse, männliche Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 180 g wurden mit Ohrmarken versehen und in Einzelkäfigen untergebracht. Es wurden dann 2 Gruppen von je 35 Tieren, die sich im Gewicht möglichst entsprachen, gebildet. Beiden Gruppen wurde Thioacetamid (T) in gleicher Menge zugeführt, um einen Leberschaden zu erzielen (41).

Dosierungsschema

Versuchsmonat Nr.	:	1	2	3	4	5	6	7	8
T-Gesamtdosis in									
mg/kg Körpergewicht :		1040	740	500	280	640	840	660	720
Zahl der verabreichten									
Einzeldosen/Monat :		19	11	11	7	12	14	11	12

In den letzten 3 1/2 Monaten wurden pro dosi stets 60 mg/kg Körpergewicht gegeben, vorher schwankte die Dosis zwischen 40 und 80 mg/kg Körpergewicht je nach Mortalität der Tiere. Eine Gruppe (D+T) erhielt zusätzlich pro dosi 75mg/kg Körpergewicht D860 (D), also etwa das Fünffache der therapeutischen Dosis beim Diabetiker. Blutzuckerbestimmungen nach Hagedorn-Jensen, die stichprobenartig durchgeführt wurden, ergaben, dass diese Dosen bei der Ratte zu keiner wesentlichen Hypoglykämie führen. Dies schien insofern günstig zu sein, als trotz der hohen, also eine echte Belastung bedeutenden Dosis durch das Fehlen der Hypoglykämie die D+T-Gruppe nicht durch einen weiteren, beim Diabetiker nicht gegebenen Faktor benachteiligt wurde. Das Futter bestand aus 50 Teilen gekochter Kartoffeln, 25 Teilen Trockenbrot und 25 Teilen Mehl, mit Wasser zu einem zähen Teig verrührt. Davon erhielten die Tiere etwa 45 g/Tag, ausserdem Salat und unbeschränkt Wasser. Die Nahrung war also eiweiss-, methionin- und cholinarm. Diese ungünstigen Ausgangsbedingungen wurden gewählt, um in der Versuchsanordnung den Zeitfaktor, der in der Entwicklung einer manifesten Hepatopathie beim Diabetiker eine grosse Rolle spielt und im Tierexperiment nicht ohne weiteres nach-

geahmt werden kann, nach Möglichkeit zu ersetzen. Die Veränderungen an der Leber wurden mit Hilfe wiederholter Serumeiweiss-Elektrophoresen und schliesslich am histologischen Präparat beurteilt.

Wie sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, verweigerten die Tiere zum Teil das Futter, wenn ihm Thioacetamid beigemischt war. Um genaue Angaben über die zugeführten Mengen machen zu können, wurden deshalb sowohl das Thioacetamid, als auch das D860 durch eine Schlundsonde verabreicht. Dazu wurde eine gerade Knopfkanüle aus V2A-Stahl von 1,3 mm Schaft- und 2,0 mm Olivendurchmesser und einer Länge von 60,0 mm verwendet. Die Konzentration der wässrigen T-, bzw. D+T-Lösung wurde so gewählt, dass die Einzeldosis in höchstens 2,0 ccm enthalten war. Um die Sondierung durchzuführen, wurden die Ratten vorher in einem Glasgefäss, das äthergetränkten Zellstoff enthielt, narkotisiert. Dann wurden sie mit dem Rücken auf ein Brett gelegt, auf dem zwischen 2 Nägeln ein Gummiring gespannt war. Dieser wurde hinter den oberen Schneidezähnen der Ratte eingehängt und der Kopf auf diese Weise fest auf dem Brett fixiert. Durch Zug am Schwanz wurde das Tier gestreckt, sodass die Sonde sich leicht bis zum Ansatz der Spritze in den Ösophagus einführen liess. Eine versehentliche Sondierung der Trachea ist an dem spürbaren Widerstand an der Bifurkation zu bemerken. Nach dem Aufwachen wurde die Ratte wieder in den Käfig zurückgesetzt und erhielt sofort Futter.

Bei der Untersuchung der Serumeiweisskörper mit Hilfe der Elektrophorese wurde wie folgt vorgegangen: Vor Beginn des Versuches, im 2., 3., 4., 5. und 8. Monat wurde bei der narkotisierten Ratte ein Stück Schwanz kupiert, das Blut in einer 17 cm langen, U-förmig gebogenen Kapillare aufgefangen, diese etikettiert und anschliessend bei 2500 U/Min. zentrifugiert. Die Schwanzwunde wurde lediglich kurz komprimiert, eine weitere Wundversorgung erübrigte sich, da die Blutung stets nach kurzer Zeit stand. Das benötigte Serum (0,0075 ccm) wurde direkt mit der zum Auftragen verwendeten Pipette aus einem abgesägten Schenkel der Kapillare entnommen. Die eigentliche Elektrophorese wurde nach der von Grassmann und Hannig

angegebenen Methode durchgeführt (21,22). Bei der Auswertung der Kurven wurde auf die Einzeichnung Gauss'scher Dreiecke verzichtet, da bei der Elektrophoresekurve der Ratte eine deutliche Talbildung zwischen den Eiweiss-Fractionen zum Teil fehlt. Statt dessen wurden Senkrechte auf die Abszisse durch den tiefsten Punkt des Kurventales gezogen oder, nach Vergleich mit dem Elektrophoresestreifen, die Gerade durch das Schwärzungsminimum gelegt. Eine Abgrenzung der α_1 - und α_2 -Globuline wurde nicht versucht. Planimetrie und Umrechnung erfolgten in üblicher Weise.

Zur histologischen Untersuchung wurde die Leber in 10%iger Formalinlösung fixiert und jeweils ein Gefrierschnitt zur Fettdarstellung mit Sudanfärbung angefertigt. Ferner wurden nach Einbettung in Paraffin ein Schnitt mit Hämatoxylin-Eosin und ein anderer nach van Gieson gefärbt.

Ergebnisse.

1. Die statistische Auswertung der Elektrophoresen.

Die statistische Auswertung der Elektrophoresen nahmen wir für jede Tiergruppe einzeln, jedoch nach den gleichen Gesichtspunkten vor. Da im Verlauf der Versuche Tiere starben, berücksichtigten wir nur diejenigen Tiere, die zum Zeitpunkt der 5. Elektrophorese noch lebten, und für die sämtliche Elektrophoresen bis zur 5.-ten einschliesslich vorlagen. (Aus technischen Gründen fielen bei einzelnen Tieren zwischendurch Elektrophoresen aus.) Die Zahl der Tiere, deren Elektrophoresen statistisch ausgewertet wurden, betrug unter diesen Gesichtspunkten in der

D + T	- Gruppe	9 Tiere
T	- Gruppe	10 Tiere.

Von den vier Eiweiss-Fractionen Albumin, α -Globulin, β -Globulin und γ -Globulin sind, bei der auch von uns angewandten Umrechnung in Prozenten der Gesamt-Eiweissmenge, nur die Werte dreier Fractionen voneinander unabhängig. (Der Wert der 4. Fraction ergibt sich notwendig als die Differenz zu 100%.) Um die statistische Analyse durch die, an sich mögliche, Be-

rücksichtigung der Abhängigkeit zwischen den vier Fraktionen nicht unnötig zu komplizieren, zogen wir zur Auswertung nur drei Fraktionen, und zwar die α -, β - und γ -Globuline heran. Diese an sich willkürliche Auswahl trafen wir in Hinblick auf die Tatsache, dass die Globuline einzeln eine wesentlich geringere Variabilität aufweisen als das Albumin, sodass für die Globuline allein wesentlich präzisere Aussagen möglich sind.

Der für ein bestimmtes Versuchstier ermittelte Messwert x einer Eiweiss-Fraktion hängt wesentlich ab

1. von dem Versuchstier (V_t)
2. von der Eiweissfraktion (F)
3. vom Zeitpunkt (t), zu dem die Elektrophorese vorgenommen wurde.

Um diese Abhängigkeit zum Ausdruck zu bringen, bezeichnen wir den einzelnen Messwert x mit

$$x = x(V_t, F, t).$$

Aufgabe der statistischen Analyse der Versuchsergebnisse war in 1. Linie die Untersuchung der Frage, in welcher Form sich der Einfluss der genannten Faktoren äussert. Es erschien uns sinnvoll und zulässig zu Lösung dieser Fragen von den nachstehenden Hypothesen auszugehen:

1. Der Unterschied zwischen den an zwei verschiedenen Tieren zum gleichen Zeitpunkt bestimmten Werten einer Globulinfraktion ist unabhängig vom Zeitpunkt der Bestimmung und von der speziellen Globulinfraktion.
2. Der Unterschied zwischen den Werten zweier verschiedener, zum gleichen Zeitpunkt am gleichen Tier bestimmter Globulinfraktionen ist unabhängig vom Zeitpunkt der Bestimmung und vom Versuchstier.
3. Der Unterschied zwischen den Werten zweier zeitlich verschiedener Bestimmungen der gleichen Globulinfraktion am gleichen Versuchstier ist unabhängig von der speziellen Globulinfraktion und dem Versuchstier.

Den Unterschied definieren wir dabei als die (arithmetische) Differenz zweier in Prozentsen der Gesamt-Eiweissmenge ausgedrückter Messwerte.

Die gemachten Hypothesen sind äquivalent mit dem Ansatz

$x(Vt, F, t) = a(Vt) + b(F) + c(t) + e$ für den einzelnen Messwert $x(Vt, F, t)$. Dabei ist $a(Vt)$ eine nur vom Versuchstier Vt , $b(F)$ eine nur von der Globulinfraktion F und $c(t)$ eine nur vom Zeitpunkt t der Bestimmung abhängige Grösse. Ausser dem Einfluss der genannten Faktoren unterliegt ein Messwert auch noch zufälligen Schwankungen, denen die Grösse e Rechnung tragen soll. Über die Grösse e setzen wir voraus, dass sie eine vom Zufall abhängige, normalverteilte Grösse mit dem Mittelwert $m = 0$ und der Varianz σ^2 ist, wobei die Parameter m und σ^2 unabhängig von der speziellen Messung sind.

Die tatsächlichen Werte der Grössen $a(Vt)$, $b(F)$ und $c(t)$ lassen sich aus den Versuchsergebnissen nicht ermitteln; sie stellen nicht auswertbare (non estimable) Parameter dar. Dagegen ist die Differenz $a(Vt_1) - a(Vt_2)$ der zu zwei verschiedenen Versuchstieren Vt_1 und Vt_2 gehörigen Grössen statistisch auswertbar (estimable). Nur wenn mindestens eine dieser Differenzen statistisch wesentlich (signifikant) von Null verschieden ist, kann behauptet werden, dass die individuelle Variabilität der Versuchstiere auf das Messergebnis einen Einfluss hat. Hinsichtlich der Grössen $b(F)$ und $c(t)$ gelten die entsprechenden Aussagen.

Die Schätzung der fraglichen Differenzen nahmen wir nach der Methode der kleinsten Quadrate vor. In den Tabellen 1 sind zunächst die Mittelwerte der zu den einzelnen Zeitpunkten an allen Tieren ermittelten Werte der einzelnen Eiweissfraktionen zusammengestellt. (Die Zeitpunkte sind in den Tabellen entsprechend ihrer Reihenfolge durch die Ziffern 1 bis 5 gekennzeichnet.) In den Tabellen 2 sind oberhalb der Diagonalen die Schätzung der Differenz $c(t_2) - c(t_1)$ der zu den beiden verschiedenen Zeitpunkten t_1 und t_2 gehörigen Konstanten $c(t_1)$ und $c(t_2)$ angegeben, und zwar in der Weise, dass t_1 der am Anfang der Zeile, t_2 der am Kopf der Spalte stehende Zeitpunkt ist. Der in der 1. Zeile in der 3. Spalte stehende Wert beispielsweise gibt an, um welchen Betrag sich jede einzelne Globulinfraktion bei der 3. Elektrophorese gegenüber der 1. Elektrophorese im Mittel geändert hat.

Die Prüfung der aufgestellten Hypothesen sowie die Unter-

suchung der Frage, inwieweit ein Einfluss der auf Seite 6 angeführten Faktoren auf die Messergebnisse vorliegt, nahmen wir mittels einer mehrfachen Varianz-Analyse vor. Die hierbei ermittelten Varianz-Komponenten sind in den Tabellen 3 in der üblichen Form zusammengestellt. SAQ ist das jeweilige Summen-Abstandsquadrat, MAQ das mittlere Abstandsquadrat (mean deviation), d. h. die Varianz, und n ist die Zahl der Freiheitsgrade, die der betreffenden Varianz zukommen.

Die "Varianz zwischen den Tieren" ist die Varianz zwischen den Grössen $a(Vt)$. Entsprechendes gilt über die Bedeutung der "Varianz zwischen den Globulinen" und die "Varianz zwischen den Zeiten". Die Varianz "Tiere-Zeiten" (sog. Wechselwirkung zwischen den Tieren und den Zeitpunkten der Bestimmung) ist ein Mass für die Abweichung der empirischen Messergebnisse von der Hypothese, der Einfluss der Tiere sei unabhängig vom Einfluss der Zeitpunkte der Bestimmung. Die Bedeutung der beiden anderen Wechselwirkungen "Tiere-Globuline" und "Globuline-Zeiten" ist eine analoge.

Die Rest-Varianz ist eine Schätzung des Versuchsfehlers. Der Vergleich der Rest-Varianz mit den einzelnen Wechselwirkungen mittels des F-Tests (Varianz-Quotienten Test) ergab, dass alle Wechselwirkungen von gleicher Grössenordnung sind wie der Versuchsfehler. Dies besagt, dass die der Interpretation der Versuchsergebnisse zugrundegelegten Hypothesen mit den empirischen Ergebnissen verträglich sind. (Als Beweis der "Richtigkeit" dieser Hypothesen kann dieses Ergebnis allein jedoch nicht angesehen werden.)

Nachdem keine Wechselwirkungen vorlagen, war es möglich, eine neue Schätzung des Versuchsfehlers durch Bildung des gewogenen Mittels aus den Wechselwirkungen und der Rest-Varianz zu gewinnen. Die damit verbundene Erhöhung der Freiheitsgrade n der Schätzung des Versuchsfehlers bringt eine erhöhte Präzision der statistischen Tests mit sich. Wir erhielten auf diese Weise die nachstehenden neuen Schätzungen für den Versuchsfehler:

D + T	- Gruppe	$n = 120,$	$MAQ = 14,49$
T	- Gruppe	$n = 134,$	$MAQ = 13,80.$

Ein statistisch gesicherter Einfluss der individuellen Varia-

bilität der Tiere liegt nur vor, wenn die "Varianz zwischen den Tieren" wesentlich grösser ist als der Versuchsfehler. Ein Vergleich beider Varianzen mittels des F-Tests ergab jedoch für beide Tiergruppen, dass sie von gleicher Grössenordnung sind. Der Einfluss der individuellen Variabilität der Tiere auf die Versuchsergebnisse kann somit bei der Interpretation der vorliegenden Versuche vernachlässigt werden. Der analoge Vergleich der "Varianz zwischen den Zeiten" mit der Fehler-Varianz ergibt bei beiden Tiergruppen einen statistisch gesicherten Einfluss der Zeitpunkte der Bestimmung auf das Ergebnis der Elektrophoresen, d. h. zwischen den Konstanten $c(t)$ bestehen statistisch gesicherte Unterschiede. Zwischen welchen Zeitpunkten speziell diese Unterschiede bestanden, prüften wir mittels des t-Tests (Student-Test). Das Ergebnis dieser Untersuchungen haben wir in den Tabellen 2 unterhalb der Diagonalen wiedergegeben. Für diejenigen Zeitpunkte, für welche die Differenz zwischen den zugehörigen Konstanten $c(t)$ statistisch zu sichern war, haben wir die Irrtumswahrscheinlichkeit, mit der die Behauptung eines gesicherten Unterschiedes behaftet war, derart in das Schema eingetragen, dass der eine Zeitpunkt am Anfang der Zeile, der andere am Kopf der Spalte steht. Die Sicherung einer oberhalb der Diagonalen stehenden Differenz findet sich somit an der symmetrisch zur Diagonalen befindlichen Stelle unterhalb der Diagonalen.

Die Varianz-Analyse ergab ausserdem für beide Tiergruppen, dass die Unterschiede zwischen den Werten der einzelnen Globulinfractionen statistisch gesichert sind. Einzelheiten können den Tabellen 4 entnommen werden, die entsprechend zu interpretieren sind wie die Tabellen 2. In den Abb. 1 und 2 werden die statistisch gesicherten Resultate graphisch dargestellt und mit der in den einzelnen Versuchsmonaten verabreichten T- und D860-Gesamtdosis verglichen. Die Errechnung des Wertes der 6. Elektrophorese, der wegen des Ausfalls weiterer Tiere nach der 5. Elektrophorese statistisch nicht zu sichern ist, stützt sich auf die Durchschnittsergebnisse aller zu diesem Zeitpunkt noch überlebenden Tiere und wird mit Vorbehalt wiedergegeben.

Zu den statistischen Untersuchungen sei noch bemerkt, dass sie in dieser ausführlichen Form nur möglich waren, weil wir uns darauf beschränkten nur solche Tiere für die Auswertung heranzuziehen, bei denen für alle Zeitpunkte Elektrophoresen vorlagen. Hätte man zu jedem Zeitpunkt alle vorliegenden Elektrophoresen ausgewertet, wäre es nur schwer möglich gewesen, zu entscheiden, in welcher Weise die individuelle Variabilität der Tiere das Ergebnis beeinflusst. Der statistischen Prüfung hätte damit eine, unter anderem, die individuelle Variabilität implizit enthaltende Schätzung des Versuchsfehlers zugrundegelegt werden müssen, wodurch die Präzision der Aussagen wesentlich geringer geworden wäre. Die Einbeziehung aller, auch bei den nicht ausgewählten Tieren durchgeführten Elektrophoresen hätte im übrigen das Gesamtergebnis nur unwesentlich verschoben, wie aus den Tabellen 1 hervorgeht. Dort sind die Durchschnittsergebnisse jener Tiere, die in der Statistik nicht berücksichtigt wurden, in Klammern angegeben. Der insgesamt etwas ungünstigere Ausfall jener Elektrophoresen lässt sich darauf zurückführen, dass die Tiere bald darauf starben.

2. Die Auswertung der Mortalität.

Es war zu untersuchen ob zwischen der Mortalität der Tiere in den einzelnen Tiergruppen und den Zeitpunkten, zu denen die Todesfälle eintraten (bzw. der Gesamtdosis, die den Tieren bis zu diesem Zeitpunkt verabreicht wurde) ein Zusammenhang bestand, und welche Unterschiede sich für diesen Zusammenhang zwischen den einzelnen Tiergruppen ergaben. Um einen Überblick über die auftretende Mortalität zu gewinnen, berechneten wir von 10 zu 10 Tagen für jede Tiergruppe das prozentuale Verhältnis der insgesamt bis zu dem betreffenden Zeitpunkt gestorbenen Tiere zu der Zahl der Tiere zu Beginn der Versuche. Das Ergebnis haben wir graphisch in der Abb. 3 wiedergegeben. In Hinblick auf die im Allgemeinen bei Dosis-Mortalitäts-Kurven vorliegenden Verhältnisse, haben wir für diese Darstellung logarithmisches Wahrscheinlichkeitspapier verwendet. Auf der Ordinate kann der Prozentsatz der bis zu dem jeweiligen Tage verstorbenen Tiere abgelesen werden.

Der Verlauf der einzelnen Kurven deutet darauf hin, dass die Mortalität in der D+T-Gruppe und in der T-Gruppe annähernd gleich ist. In beiden Gruppen waren nach 60 Tagen bereits 50% der Tiere verstorben. Eine statistische Auswertung dieser Ergebnisse war wegen der kleinen Zahl der Tiere nicht möglich. Abschliessend sei noch bemerkt, dass ein Teil der Versuchstiere während der Narkose starb; diese Tiere berücksichtigten wir bei der Berechnung der Mortalität nicht (d. h. wir zogen nur solche Tiere dazu heran, die eindeutig an den Folgen der Medikation starben oder die ganze Versuchsdauer über lebten), da die Narkose einen für die Fragestellung dieser Arbeit exogenen Faktor darstellt.

3. Mikroskopische Befunde.

Langfristige Gaben von Sulfonylharnstoffen verursachen selbst in wesentlich höheren Dosen als bei dem vorliegenden Versuch keine morphologisch fassbaren Veränderungen des Leberparenchyms (38). Die gleichzeitige Gabe eines oxydationshemmenden Leberzellgiftes sollte die mögliche Wirkung des D860 auf die geschädigte Leber erweisen. Zur histologischen Untersuchung kamen 56 Tiere, 30 aus der Kontroll-(T-)Gruppe und 26 aus der D+T-Gruppe.

Bei der T-Gruppe zeigten sich schon nach wenigen Tagen deutliche Zellveränderungen mit Kernvergrösserung, Nukleolenvergrösserung und reichlich doppelkernigen Leberzellen; an der Läppchenperipherie fand sich teils eine sehr ausgeprägte feinsttropfige Parenchymzellverfettung. Nach gut 3 Wochen kam es zu ersten vereinzelt Zelluntergängen des Läppchenrandes mit rundzelliger Infiltrierung der Interlobärspalten von den periportalten Feldern her. In der 5. und 6. Woche zeigte die Leber eine deutliche Faservermehrung des interlobulären Interstitiums und kaum noch Zelluntergänge; weiter fand sich eine deutliche Cholestase. In der 2. Versuchsphase, vom 50. Tag bis zum Absetzen der T-Gaben kam es zu einer weiteren Zunahme der interstitiellen Fibrose, während die rundzellige Infiltrierung der periportalten Felder und Interlobärspalten abnahm und frische Zelluntergänge fehlten. In den verbreiterten periportalten Feldern fand sich keine Vermehrung der Gallen-

gänge. In der 3. Versuchsphase (nach Absetzen der Medikation) kam es in einem Fall nach über 300 Tagen zu einer ausgeprägten Gallengangswucherung mit Adenombildung. Es ergab sich also der mikroskopische Befund einer zunächst frischen interstitiellen Hepatitis mit fast ausschliesslicher Einbeziehung der Läppchenperipherie in Form feintropfiger Verfettung und einzelner Zellnekrosen. Später entstand bei fortdauernder T-Verabreichung eine chronische, fibrosierende, interstitielle Hepatitis. Weil Gallengangswucherungen und eigentlicher Umbau mit Pseudolobulibildung fehlten, mussten die Veränderungen als interstitielle Hepatitis bezeichnet werden. Nur in einem Fall ergab sich eine Lebercirrhose mit Gallengangsadenombildung. Die D+T-Gruppe zeigte in der 1. Versuchsphase die gleichen Veränderungen wie die Kontrollgruppe, es konnten weder grundsätzliche noch graduelle morphologische Unterschiede festgestellt werden. In der 2. Versuchsphase, dem Stadium der subchronischen Veränderungen (vgl. Kontrollgruppe) traten bei dieser Gruppe schon 3 Fälle von deutlichem Leberumbau auf, einer davon zeigte Gallengangsadenome. Die 5 älter als 300 Tage gewordenen und erst 40 Tage nach Behandlungsende getöteten Tiere dieser Gruppe zeigten alle das Bild der echten Lebercirrhose mit schweren adenomartigen Gallengangswucherungen.

Diskussion der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.

Als Grundlage der Diskussion der Ergebnisse sollen kurz die Vorstellungen erwähnt werden, die man zum jetzigen Zeitpunkt vom Stoffwechselgeschehen unter Sulfonylharnstoffen hat. Während einige Autoren den antidiabetischen Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe auf eine direkte Beeinflussung der Pankreas-B-Zellen im Sinne einer Stimulierung der Insulinproduktion oder -sekretion zurückführen (25,33), oder eine Reaktion der Sulfonylharnstoffe mit dem Insulin in den B-Zellen annehmen (16), schreiben andere den hypoglykämischen Effekt einer Einwirkung auf das Leberenzymssystem zu (2,3,5,6, 8, 10, 17, 18, 27, 28, 29, 30, 35, 46, 47). Vereinzelt wurde über mögliche Zeichen für Leberschäden berichtet, besonders

unter BZ55 (1,12,23,26,34,36,40,43), während unter D860 nur sehr wenige ungünstige Befunde erhoben wurden, wobei eine Schuld des Medikaments fraglich war (15,36,44). Ganz allgemein wurde jedoch zumeist die fehlende Lebertoxizität betont (11, 13,20,42). In einigen Fällen wurde sogar bei bestehenden Hepatopathien ein therapeutischer Erfolg durch Sulfonylharnstoffe gesehen (24,32).

Bei unseren Versuchen ergab die Auswertung der Elektrophoresen eine von der Thioacetamiddosis abhängige Verminderung des Albumin-Globulin-Quotienten, die statistisch zu sichern war. Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren statistisch nicht signifikant, jedoch schien das Absinken der Albumine, bzw. das Ansteigen der Globuline, bei der D+T-Gruppe bis zum Zeitpunkt der 3. Elektrophorese, nach einer ersten Periode mit verhältnismässig hohen Dosen Thioacetamid, geringer zu sein als bei der Kontrollgruppe (Tab. 1 u. 2, Abb. 1 u. 2). Dieser Befund entspricht den Beobachtungen von B. Knick und K. Emrich (24), sowie K. H. Pfeffer u. Mitarb. (32), die an leberkranken Patienten unter Sulfonylharnstoffgaben zum Teil eine Normalisierung der Elektrophoresediagramme sahen. Sie nahmen dabei unter anderem eine Leberschutzwirkung der Sulfonylharnstoffe durch Vermehrung des Leberglykogens an (5,17,18). Die Mortalität war bei unseren Versuchstieren in beiden Gruppen annähernd gleich, und nur in der ersten Periode bei der D+T-Gruppe eher etwas höher (Abb. 3). Bei der histologischen Untersuchung liess sich im Versuchsablauf ein akutes, subakutes und ein chronisches Stadium unterscheiden. Im akuten Stadium fanden sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Im Stadium der chronischen Veränderungen entstanden bei der D+T-Gruppe mehr Lebercirrhosen als bei der Kontrollgruppe. Es ergab sich also hier ein Unterschied zwischen den Ergebnissen der Elektrophoresen und den mikroskopischen Befunden. Bemerkenswert ist, dass auch K. H. Pfeffer u. Mitarb. bei Laparoskopien keine der Funktionsverbesserung der Leber entsprechenden makro- und mikroskopischen Bilder beim Menschen sahen. Dieser scheinbar widerspruchsvolle Befund ist noch nicht deutbar.

Nach unseren Ergebnissen glauben wir, dass bei schweren Leberschäden D860 eine zusätzliche Belastung darstellen kann,

wobei die Elektrophorese den Grad der Veränderungen nicht, oder noch nicht, erkennen lässt. Da die Leber des Diabetikers ja immer nur als bedingt gesund anzusehen ist (9,39), scheint uns doch Zurückhaltung bei der D860-Medikation geboten und eine Behandlung mit Insulin besser geeignet zu sein, falls gleichzeitig eine die Leber stärker in Mitleidenschaft ziehende Erkrankung vorliegt.

Zusammenfassung.

Es sollte die Wirkung von N-(4-Methyl-benzolsulfonyl)-N'-butyl-harnstoff (D860) auf die geschädigte Leber untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde an eiweissarm ernährte Ratten Thioacetamid, ein spezifisches Lebergift, verabreicht und einem Teil der Tiere zusätzlich D860 gegeben. Die Substanzen wurden in wässriger Lösung per Schlundsonde zugeführt. Verglichen wurde das Verhalten der Serum-eiweisskörper mittels Elektrophorese, die Überlebenszeit und die morphologischen Veränderungen der Leber bei beiden Gruppen.

Bei der D+T-Gruppe war das Absinken des Albumin-Globulin-Quotienten gegenüber der Kontrollgruppe etwas geringer. Hinsichtlich der Überlebenszeit waren keine verwertbaren Unterschiede festzustellen. Bei der histologischen Untersuchung erwies sich jedoch, dass bei der D+T-Gruppe mehr Cirrhosen auftraten als bei der T-Gruppe. Diese Befunde wurden mit klinischen Beobachtungen verglichen und der Schluss gezogen, dass D860 bei schweren Leberschäden eine zusätzliche Belastung bedeuten kann und in solchen Fällen eine Behandlung des Diabetes mellitus mit Insulin vorzuziehen ist.

T a b e l l e n 1 .

D + T - G r u p p e .

	Albumin	α -Globulin	β -Globulin	γ -Globulin
1	46,4(41,6)	16,0(19,0)	21,6(21,6)	16,1(17,8)
2	42,0(35,0)	15,8(19,4)	22,0(25,0)	20,2(20,6)
3	36,3(32,5)	18,0(20,1)	26,3(26,7)	19,4(20,7)
4	40,0	15,8	24,3	19,9
5	37,9	18,4	21,4	22,2

T - G r u p p e .

	Albumin	α -Globulin	β -Globulin	γ -Globulin
1	45,1(41,0)	15,8(17,4)	19,6(22,8)	19,4(18,8)
2	39,3(33,5)	17,9(21,0)	22,4(24,9)	20,4(20,6)
3	29,3(34,1)	21,5(17,0)	25,9(24,9)	23,2(24,0)
4	41,1(35,5)	14,8(19,0)	23,2(24,2)	20,8(21,3)
5	38,5	16,3	23,8	21,5

T a b e l l e n 2 .

D + T - G r u p p e .

	1	2	3	4	5
1		+ 1,44	+ 3,36	+ 2,12	+ 2,80
2	-		+ 1,91	+ 0,68	+ 1,36
3	1,0%	10,0%		- 1,24	- 0,55
4	5,0%	-	-		+ 0,69
5	1,0%	-	-	-	

T - G r u p p e .

	1	2	3	4	5
1		+ 1,95	+ 5,27	+ 1,34	+ 2,10
2	5,0%		+ 3,32	- 0,61	+ 0,27
3	0,1%	0,1%		- 3,93	- 3,06
4	-	-	0,1%		+ 0,87
5	5,0%	-	1,0%	-	

T a b e l l e n 3 .

D + T - G r u p p e .

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	8	110,54	13,82
Zwischen den Zeiten	4	183,84	45,96
Zwischen den Globulinen	2	914,86	457,43
Tiere-Zeiten	32	228,16	7,13
Tiere-Globuline	16	349,67	21,85
Zeiten-Globuline	8	215,81	26,98
Rest-Varianz	64	945,33	14,77
Gesamt-Varianz	134	2 948,21	22,00

T - G r u p p e .

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	9	222,82	24,76
Zwischen den Zeiten	4	451,75	112,94
Zwischen den Globulinen	2	838,92	419,45
Tiere-Zeiten	36	543,42	15,09
Tiere-Globuline	18	180,38	10,02
Zeiten-Globuline	8	116,24	14,53
Rest-Varianz	72	1 009,41	14,02
Gesamt-Varianz	149	3 362,94	22,57

T a b e l l e n 4 .

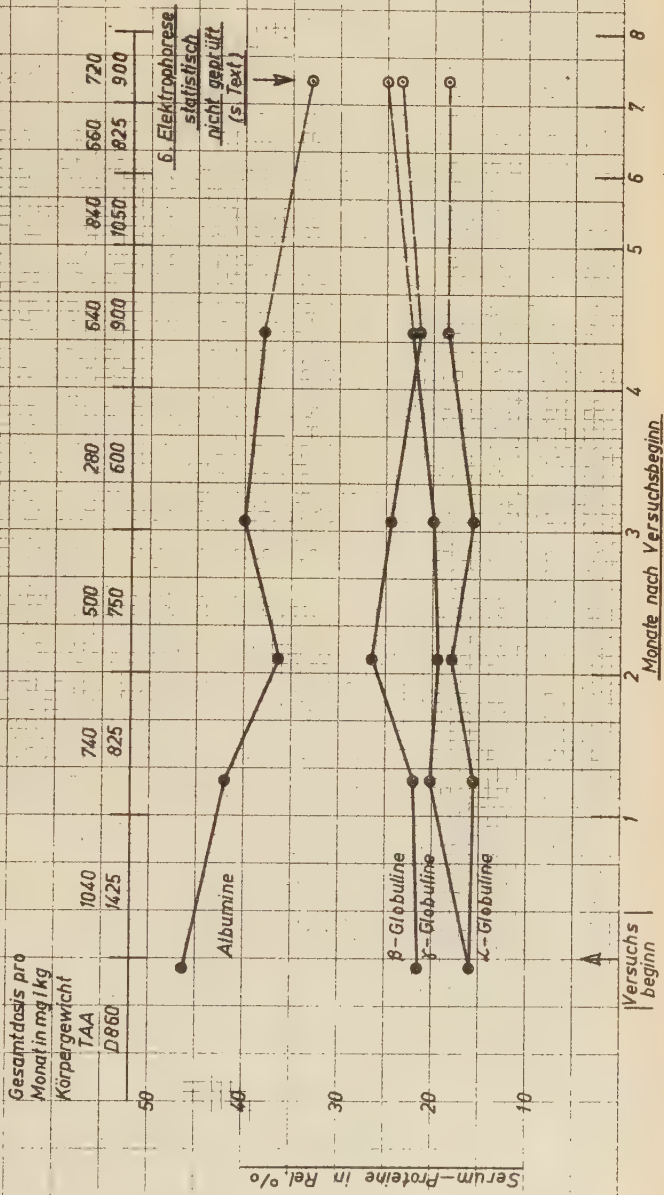
D + T - G r u p p e .

	α	β	γ
α		+ 6,36	+ 2,76
β	0,1%		- 3,60
γ	0,1%	0,1%	

T - G r u p p e .

	α	β	γ
α		+ 5,69	+ 3,78
β	0,1%		- 1,91
γ	0,1%	2,0%	

Elektrophoresewerte der mit Thioacetamid und D 860 belasteten Ratten in Abhängigkeit von der Dosierung der Substanzen



Elektrophoresewerte der mit Thioacetamid belasteten Kontrollratten in Abhängigkeit von der Dosierung der Substanz

Gesamtdosis pro Monat in mg/kg Körpergewicht

TAA

50

740

500

280

540

840

560

720

6. Elektrophorese statistisch nicht geprüft (s. Text)

Serum Proteine in Rel. %

40

30

20

10

Albumine

β -Globuline

γ -Globuline

δ -Globuline

Versuchsbeginn

2 Monate nach Versuchsbeginn

8

7

6

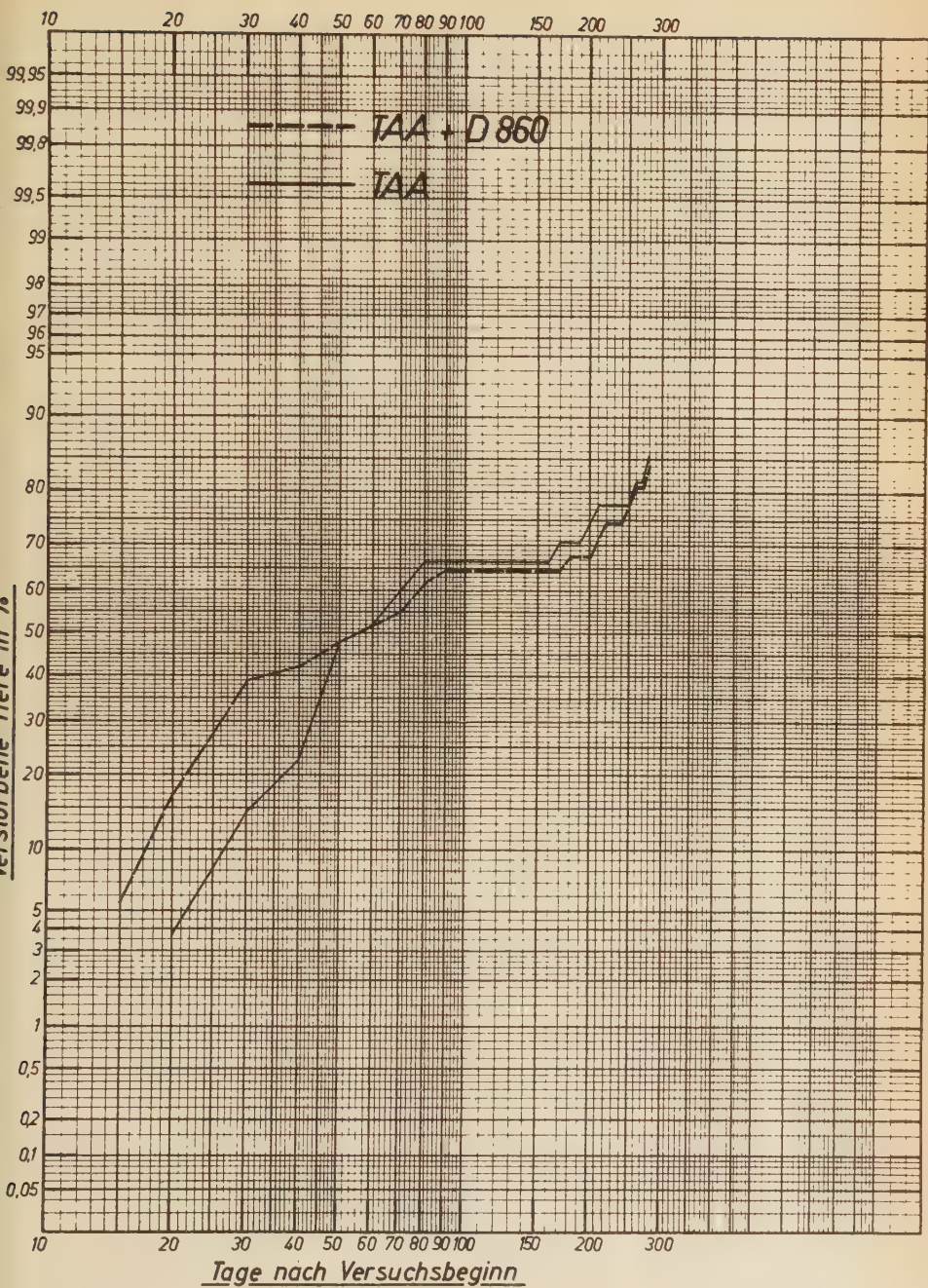
5

4

3

2

1



Schrifttum.

- (1) Andersson, B.: Aktuelle Diabetesfragen. Sympos., Hamburg 24. 1. 1957. Bearb. F. Bertram u. J. Kuntze. (Thieme, Stuttgart 1957), 31. - (2) Ashmore, J., Cahill jr., G. F. and Earle, A. S.: Annals of the N. Y. Acad. of Sciences 71 (1957), 131. - (3) Ashmore, J., Cahill jr., G. F. and Hastings, A. B.: Metabolism 5 (1956), 774. - (4) Bänder, A.: Verh. Dtsch. Ges. Pharmakol. (1955). - (5) Bänder, A. u. Scholz, J.: Dtsch. med. Wschr. 81 (1956), 889. - (6) Bastenie, P. A., Franckson, J. R. M., De Meutter, R., Demanet, T. C. and Conard, V.: The Lancet 1957/I, 504. - (7) Bertram, F., Bendfeldt, E., Otto, H.: Dtsch. med. Wschr. 80 (1955), 1455. - (8) Bornstein, J.: Nature 179 (1957), 5341. - (9) Bradley, R. F., Sagild, U. and Schertenleib, F. E.: New. Engl. J. Med. 253 (1955), 454. - (10) Bressler, B. R. and Engel, F. L.: Proc. of the Soc. for Exp. Biology and Medicine 95 (1957), 738. - (11) Broglie, M.: In Nr. 1, 33. - (12) Camerini-Davalos, R., Root, H. F. and Marble, A.: Diabetes 6 (1957), 74. - (13) Conference on The Effects of the Sulfonylureas and Related Compounds in Experimental and Clinical Diabetes, ref. in Annals of the N. Y. Acad. of Sciences 71 (1957), 1. - (14) Creutzfeldt, W.: Verh. Dtsch. Ges. Verdauungskrrkh. (1955). - (15) Creutzfeldt, W.: Disk. in Dtsch. med Wschr. 82 (1957), 1532. - (16) Creutzfeldt, W., Detering, L. u. Welte, O.: Dtsch. med. Wschr. 82 (1957), 1564. - (17) Creutzfeldt, W., Sütterle, H.: Dtsch. med. Wschr. 82 (1957), 1574. - (18) Dulin, W. E., Johnston, R. L.: Annals of the N. Y. Acad. of Sciences 71 (1957), 177. - (19) Franke, H., Fuchs, J.: Dtsch. med. Wschr. 80 (1955), 1449. - (20) Furthmüller, W., Kühne, P., Martini, F., Stötter, G.: Dtsch. med. Wschr. 82 (1957), 1531. - (21) Grassmann, W., Hannig, K.: Naturwissenschaften 37 (1950), 496. - (22) Grassmann, W., Hannig, K.: Z. physiol. Chemie 290 (1952), 1. - (23) Kirtley, J. R.: Diabetes 6 (1957), 72. - (24) Knick, B. u. Emrich, K.: Klin. Wschr. 35 (1957), 812. - (25) Levine, R., Sobel, G. W.: Diabetes 6 (1957), 263. - (26) Marble, A., Camerini-Davalos, R.: Annals of the N. Y. Acad. of Sciences 71 (1957), 239. -

- (27) Miller, M., Craig, J. W., Mackenzie, M. S., Drucker, W. R., Cammarn, M., Woodward jr., H.: *Annals of the N. Y. Acad. of Sciences* 71 (1957), 51. - (28) Mirsky, J. A.: *Metabolism* 5 (1956), 156. - (29) Mohnike, G., Knitsch, W.: *Dtsch. med. Wschr.* 81 (1956), 891. - (30) Mohnike, G., Knitsch, K. W., Boser, H., Werner, G., Werner, S.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1580. - (31) Mohnike, G., Wittenhagen, G.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1556. - (32) Pfeffer, K. H., Zimmer, V., Fuchs, K. J., Kluwe, H., Michel, W.: *Ärztl. Wschr.* 13, 1958/5. - (33) Pfeiffer, E. F., Steigerwald, H., Sandritter, W., Bänder, A., Mager, A., Becker, U., Retiene, K.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1568. - (34) Pieper, H.: *In Nr. 1*, 51. - (35) Renold, A. E., Winegrad, A. I., Froesch, E. R., Thorn, G. W.: *Metabolism* 5 (1956), 757. - (36) Schambye, P.: *Diabetes* 6 (1957), 146. - (37) Schöffling, K., Pfeiffer, E. F., Steigerwald, H., Bachrach, I., Becker, U.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1537. - (38) Scholz, J., Bänder, A.: *Dtsch. med. Wschr.* 81 (1956), 825. - (39) Schneider, T., Bersohn, I.: *Medical Proceedings* 3 (1957), 375. - (40) Schulze, G.: *In Nr. 1*, 40. - (41) Schwietzer, H.: *Vortrag Norddeutscher Internistenkongr.* Jan. 1957. - (42) Seidler, I., Endres, W., Seus, R., Furthmüller, M., Martini, F., Dorf Müller, Th., Stötter, G.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1518. - (43) Sirek, A., Sirek, O. V., Best, G. H.: *Diabetes* 6 (1957), 151. - (44) Steigerwald, H., Schöffling, K., Pfeiffer, E. F., Meyer, K.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1529. - (45) Stötter, G.: *Verh. Dtsch. Ges. Verdauungskrrkh.* (1955). - (46) Vaughn, M.: *Annals of the N. Y. Acad. of Sciences* 71 (1957), 112. - (47) Wallenfels, K., Summ, H. D., Creutzfeldt, W.: *Dtsch. med. Wschr.* 82 (1957), 1581. - (48) Wiechmann, E.: *Die Zuckerkrankheit* (J. F. Lehmann, München 1953.), 247.

Lebenslauf.

Ich, Hans Kastein, wurde am 16. 6. 1933 zu Hannover als Sohn des Dr. med. Hans Arnold Kastein, Facharzt für Chirurgie und Chefarzt der chirurgischen Abteilung der Hannoverschen Kinderheilanstalt, und seiner Ehefrau Renate, geb. v. Vegesack, geboren.

Ab Ostern 1939 besuchte ich die Volksschule in Hannover; im Jahre 1941 ging ich einige Zeit in Kalwang/Steiermark und dann in Friedrichsbrunn/Harz zur Schule; vom Herbst 1941 bis zum Herbst 1945 wurde ich im Kinderhaus Schult in Oberstdorf im Allgäu unterrichtet und ging dort mit der Versetzung in die 3. Oberschulklasse ab. Von Ostern 1946 an besuchte ich das Staatliche Kaiser Wilhelms Gymnasium zu Hannover, dort bestand ich am 29. Februar 1952 die Reifeprüfung.

Seit dem Sommersemester 1952 studierte ich Medizin an der Universität zu Marburg, dort bestand ich im Oktober 1954 die ärztliche Vorprüfung. Nach dem 1. klinischen Semester (W. S. 1954/55) liess ich mich in Marburg exmatrikulieren und ging für das folgende Sommersemester nach München. Im Wintersemester 1955/56 studierte ich in Innsbruck, darauf wieder in München, wo ich am 7. 12. 1957 die ärztliche Prüfung bestand.

Seit dem 1. Januar 1958 bin ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Poliklinik der Universität München tätig.

